

## تأثیر عصاره دانه خرنوب بر فاکتورهای عملکردی کبد در موش صحرایی نر دیابتی

دکتر مختار مختاری\*، اسفندیار شریفی، مریم شاه امیر طباطبایی

گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، کازرون، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۱/۹/۱۲ اصلاح نهایی: ۹۱/۱۱/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱/۲۶

### چکیده:

**زمینه و هدف:** دیابت یکی از شایع ترین بیماری های متابولیک در سراسر جهان است که با تغییرات پاتولوژیکی زیادی در ارتباط است. در این تحقیق تأثیر عصاره آبی-الکلی دانه خرنوب (*Ceratonia siliqua* L.) بر فاکتورهای عملکردی کبد بعد از تزریق استرپتوزتوسین بررسی شد. **روش بررسی:** در این مطالعه تجربی ۵۶ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۲۰-۲۱۰ گرم استفاده شد که به طور تصادفی به ۷ گروه هشت تایی تقسیم شدند، گروه کنترل بدون هیچ گونه تیمار دارویی، گروه شاهد که روزانه فقط آب مقطر دریافت نمودند، گروه کنترل تیمار شده با عصاره آبی-الکلی دانه خرنوب به میزان ۶۰۰mg/kg، گروه کنترل دیابتی که فقط استرپتوزتوسین دریافت کردند و گروه های تجربی ۱ و ۲ و ۳ که علاوه بر دیابتی شدن به ترتیب روزانه مقادیر ۱۵۰ و ۳۰۰ و ۶۰۰ میلیگرم بر کیلوگرم عصاره آبی-الکلی دانه خرنوب را به صورت گاواژ، به مدت ۱۶ روز دریافت کردند. در پایان دوره آزمایش از همه گروه ها نمونه خونی تهیه گردید و میزان آنزیم های آلانین آمینوترانسفراز، آسپاراتات آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز، پروتئین توتال و آلبومین اندازه گیری شد. داده ها با استفاده از آزمون های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و تست تعقیبی LSD تجزیه و تحلیل شدند. **یافته ها:** میزان آنزیم های آسپاراتات آمینوترانسفراز، آلانین ترانسفراز و آلکالین فسفاتاز در گروه های تجربی ۱ و ۲ و ۳ نسبت به گروه کنترل دیابتی کاهش معنی داری نشان دادند ( $P<0/05$ ). افزایش میزان پروتئین توتال تنها در گروه تجربی ۳ نسبت به گروه کنترل دیابتی معنی دار بود ( $P<0/05$ ). میزان آلبومین در گروه های تجربی ۱، ۲ و ۳ نسبت به گروه شاهد دیابتی نیز افزایش معنی داری نشان داد ( $P<0/05$ ). **نتیجه گیری:** بر اساس نتایج این مطالعه عصاره آبی-الکلی دانه خرنوب با کاهش آسیب کبدی ناشی از دیابت می تواند در رژیم غذایی بیماران دیابتی مورد استفاده قرار گیرد.

**واژه های کلیدی:** دانه خرنوب، دیابت، کبد، موش صحرایی.

### مقدمه:

گلوکز خون در محدوده طبیعی می باشد و افزایش قند خون منجر به عدم تعادل در واکنش های اکسیداسیون-احیا در درون سلول های کبدی می شود. هیپرگلیسمی با افزایش تولید گونه های فعال اکسیژن منجر به تنش های شدید اکسیداتیو در سلول می گردد (۳،۲). بنابراین آسیب کبدی ناشی از دیابت توسط فاکتورهای متعددی ایجاد می گردد و کنترل گلوکز خون به تنهایی برای تعویق انداختن عوارض دیابت کافی نیست. سلول ها با مکانیسم های متعددی خود را در برابر صدمات ناشی از رادیکال های آزاد محافظت می کنند. با توجه به نقش رادیکال های آزاد در دیابت، یکی از راه های درمان

دیابت ملیتوس یکی از اختلالات متابولیکی مهم در همه کشورها می باشد که گریبان گیر انسان ها بوده و از شیوع بالایی در سراسر جهان برخوردار است. در بیماری دیابت طیف وسیعی از بیماری های کبدی از قبیل افزایش غیر طبیعی آنزیم های کبدی، بیماری کبد چرب غیر الکلی، سیروز کبدی، کارسینومای سلول های کبدی و اختلال مزمن کبدی دیده می شود. مطالعات نشان می دهد رابطه دو طرفه میان دیابت و بیماری کبدی وجود دارد به عبارت دیگر درصدد بالایی از بیماری کبدی در بیماران دیابتی نیز دیده می شود (۱).

کبد اندامی موثر در حفظ و برقراری سطح

این بیماری کاهش رادیکال های آزاد است (۵،۴). مطالعات نشان می دهد مصرف مواد حاوی آنتی-اکسیدان می تواند موقعیت استرس اکسیداتیو درون سلولی ناشی از تولید رادیکال های آزاد را به حداقل برساند (۶،۷). امروزه با توجه به اثرات جانبی داروهای شیمیایی، مطالعه بر روی گیاهان مورد استفاده در طب سنتی با هدف رسیدن به ساختارهای جدید در اولویت قرار گرفته است. بسیاری از گیاهان به عنوان منابع آنتی اکسیدان طبیعی پیشنهاد و مورد مطالعه قرار گرفته اند و نشان داده شده است که قسمت های مختلف گیاهان حاوی مواد آنتی اکسیدان می باشند لذا کاربرد این گیاهان نیز می تواند در درمان عوارض دیابت از جمله آسیب کبدی دیابت موثر باشد (۸،۹). یکی از گیاهانی که باعث کاهش قند خون می گردد دانه خرنوب (*Ceratonia siliqua* L.) می باشد (۱۱،۱۰). خرنوب درختی به ارتفاع ۷ تا ۱۲ متر است که به خانواده حبوبات تعلق دارد. برگ های این درخت مرکب از ۸ تا ۱۰ برگچه چرمی، براق و قطور به رنگ سبز تیره هستند. گل ها در طول محور گل آذین درخوشه شاتون مانند به رنگ های زرد و قرمز دیده می شود. میوه این گیاه نیامی ناشکوفه، طویل و منحنی شکل به طول ۱۰ تا ۳۰ سانتی متر به رنگ قهوه ای است. نیام ها حاوی ۱۲ تا ۱۶ دانه سخت می باشد. این گیاه بومی مناطق مدیترانه است و در ایران فقط در استان فارس، شهرستان کازرون به صورت خودرو وجود دارد (۱۳،۱۲).

مطالعات نشان می دهد مصرف دانه خرنوب در کودکان مبتلا به رفلکس معده ای- مری علائم بالینی استفراغ، سرفه شبانه و نفخ شکم را بهبود می بخشد (۱۴) همچنین عصاره متانولی این گیاه با افزایش مرگ برنامه ریزی شده در سلول های سرطانی پستان به طور معنی داری رشد و نمو سلول ها را مهار می کند. بنابراین به دلیل داشتن پلی فنول ها و آنتی اکسیدان ها اثرات ضد سرطان پستان را دارد (۱۱). از دیگر اثرات این گیاه می توان به اثرات مهاری بر رشد انگل اشاره کرد که به منظور تولید داروهای ضد مالاریا استفاده شده است

(۱۵). خرنوب به دلیل داشتن ترکیباتی مانند فیبر، توکوفرول، پلی فنول ها، آنتی اکسیدان ها و استرول های گیاهی برای درمان و بهبود علائم دیابت مفید می باشد (۱۶،۱۱).

با توجه به اینکه تاکنون مطالعه ای در زمینه تاثیر دانه این گیاه بر فعالیت فاکتورهای عملکردی کبد گزارش نشده است، در این پژوهش تاثیر عصاره آبی-الکلی دانه خرنوب بر فاکتورهای عملکردی کبد مانند آنزیم های آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین ترانسفراز (ALT)، آلکالین فسفاتاز (ALP) و همچنین تغییرات پروتئین های سرم مانند آلبومین و پروتئین توتال جهت پیشگیری و یا کاهش صدمات وارده در شرایط دیابت بررسی شد.

### روش بررسی:

برای انجام این مطالعه تجربی در اوایل فصل بهار سال ۱۳۸۹ در اطراف شهرستان کازرون میوه های گیاه خرنوب با نام علمی (*Ceratonia siliqua* L.) جمع آوری شدند. برای تهیه عصاره دانه، نیام ها را شکسته، دانه ها را جدا و آسیاب کرده تا پودر نرمی حاصل شود. یک کیلوگرم از پودر حاصله را به نسبت ۵۰/۵۰ با الکل اتانول ۹۶ درصد و آب به مدت ۷۲ ساعت خیسانده و آن را صاف کرده و در مرحله آخر در آون ۴۰ درجه قرار داده شد تا آب و الکل آن تبخیر گردد و یک شیر قهوه ای غلیظ باقی ماند (۱۷). از ۱۰۰۰ گرم وزن خشک گیاه ۱۰۰ گرم عصاره خالص به دست آمد. در مرحله بعد مقادیر مورد نظر از عصاره در آب مقطر حل شدند تا غلظت های مختلف به دست آید (۱۸).

برای بررسی اثر عصاره از تعداد ۵۶ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار (Wistar) در محدوده وزنی ۲۲۰-۲۱۰ گرم و محدوده سنی ۳-۲/۵ ماه استفاده شد، که از خانه حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون تهیه گردیدند. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی گراد در آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد

بعد از ۱۶ روز، تحت تاثیر بیهوشی خفیف با اتر از قلب نمونه ها خونگیری به عمل آمد (۱۸). نمونه های خونی به دست آمده ۲۰ دقیقه در شرایط آزمایشگاهی نگهداری و سپس به مدت ۱۵ دقیقه با ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. میزان ALT، AST، ALP، پروتئین توتال و آلبومین توسط دستگاه اتوآنالایزر (Technico RA-1000) اندازه گیری شد (۲۱).

در قسمت استنباطی نخست به منظور تعیین نرمال بودن داده ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف استفاده شد، میانگین مقادیر بدست آمده در گروه های آزمایشی با روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و تست تعقیبی Post hoc از نوع LSD و با در نظر گرفتن  $P < 0.05$  توسط برنامه SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

### یافته ها:

بر اساس نتایج حاصل از آنالیز واریانس بین میزان آنزیم AST، ALP و ALT در گروه کنترل، گروه شاهد و گروه کنترل تیمار اختلاف معنی داری مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). میزان این آنزیم ها به ترتیب برابر با  $31.93 \pm 3.04 \mu\text{L}$ ،  $30.4 \pm 2.4 \mu\text{L}$  و  $182 \pm 24 \mu\text{L}$  و  $105.0 \pm 8.1 \mu\text{L}$  در گروه کنترل دیابتی بود که نسبت به گروه کنترل، افزایش معنی داری نشان داده بود ( $P < 0.05$ ). در گروه های تجربی ۱، ۲، ۳ دریافت کننده عصاره، کاهش معنی داری در میزان آنزیم ها نسبت به گروه کنترل دیابتی مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). بیشترین کاهش مقادیر آنزیم ها در گروه تجربی ۱ صورت گرفت به طوری که در این گروه، مقدار آنزیم AST به  $20.4 \pm 1.96 \mu\text{L}$ ، مقدار آنزیم ALT به  $27.64 \pm 9.3 \mu\text{L}$  و مقدار آنزیم ALP به  $57.71 \pm 5.75 \mu\text{L}$  کاهش یافت.

میانگین مقادیر پروتئین توتال تنها در گروه تجربی ۳ نسبت به گروه کنترل دیابتی افزایش

کازرون نگهداری شدند. آب و غذا در طول آزمایش بدون هیچ محدودیتی در اختیار آنها قرار گرفت. ملاحظات اخلاقی در رفتار با حیوانات مطابق با کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون رعایت گردید. حیوانات مورد استفاده در این پژوهش ابتدا وزن شده و به صورت تصادفی در ۷ گروه ۸ تایی به شرح زیر قرار داده شدند:

۱- گروه کنترل: در طی دوره آزمایش از آب و غذای استاندارد استفاده کرده و هیچگونه عصاره، حلال عصاره و دارویی دریافت نکردند.

۲- گروه شاهد: به مدت ۱۶ روز ۲ml حلال عصاره (آب مقطر) به صورت گاواژ دریافت کردند.

۳- گروه کنترل تیمار: روزانه  $60 \text{ mg/kg}$  عصاره دانه خرنوب به مدت ۱۶ روز به صورت گاواژ دریافت نمودند.

۴- گروه کنترل دیابتی: این گروه با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوسین به مقدار  $60 \text{ mg/kg}$  دیابتی شدند.

۵- گروه تجربی ۱: این گروه با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوسین به مقدار  $60 \text{ mg/kg}$  دیابتی شدند و به مدت ۱۶ روز  $150 \text{ mg/kg}$  عصاره دانه خرنوب به صورت گاواژ دریافت نمودند.

۶- گروه تجربی ۲: این گروه با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوسین به مقدار  $60 \text{ mg/kg}$  دیابتی شدند و به مدت ۱۶ روز  $300 \text{ mg/kg}$  عصاره دانه خرنوب به صورت گاواژ دریافت نمودند.

۷- گروه تجربی ۳: این گروه با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوسین به مقدار  $60 \text{ mg/kg}$  دیابتی شدند و به مدت ۱۶ روز  $600 \text{ mg/kg}$  عصاره دانه خرنوب به صورت گاواژ دریافت نمودند.

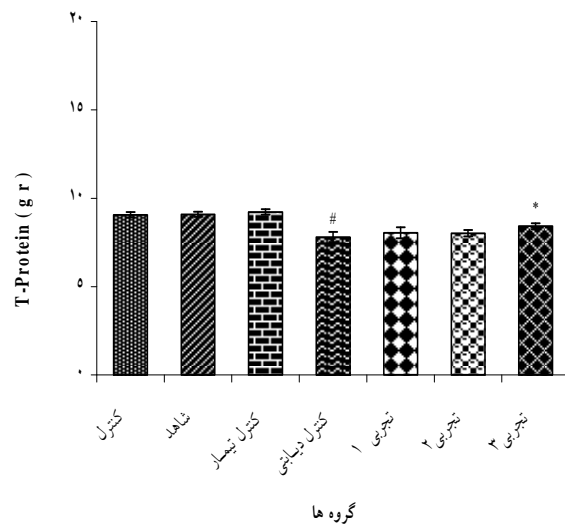
برای دیابتی کردن موش های صحرایی قبل از انجام آزمایش از تزریق داخل صفاقی استرپتوزوسین به مقدار  $60 \text{ mg/kg}$  در حالت ناشتا استفاده گردید (۱۹). برای اطمینان از دیابتی شدن حیوانات یک هفته بعد از تزریق از دم موش ها خونگیری به عمل آمد و میزان قند خون با دستگاه Easygluco اندازه گیری شد. منبای دیابتی شدن میزان بالاتر از  $200 \text{ mg/dl}$  قند خون در نظر گرفته شد (۲۰).

میانگین مقادیر آلبومین در گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل کاهش معنی دار نشان داد ( $P < 0.05$ ) ولی در گروه های تجربی و نسبت به گروه کنترل دیابتی افزایش معنی داری مشاهده شد ( $P < 0.05$ ) (نمودار شماره ۲).

### بحث:

نتایج بررسی های بیوشیمیایی در مطالعه حاضر نشان داد که در گروه کنترل دیابتی میزان آنزیم های ALT، AST و ALP سرم به طور معنی داری در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت و تیمار موش های صحرایی با عصاره آبی - الکلی دانه خرنوب، میزان این آنزیم ها را به طور معنی داری در گروه های تجربی در مقایسه با گروه کنترل دیابتی کاهش داد. در این پژوهش میزان پروتئین توتال و آلبومین در گروه کنترل دیابتی در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت و تیمار موش های صحرایی با عصاره آبی - الکلی دانه خرنوب توانسته میزان این فاکتور ها را در گروه های تجربی نسبت به گروه شاهد دیابتی افزایش دهد.

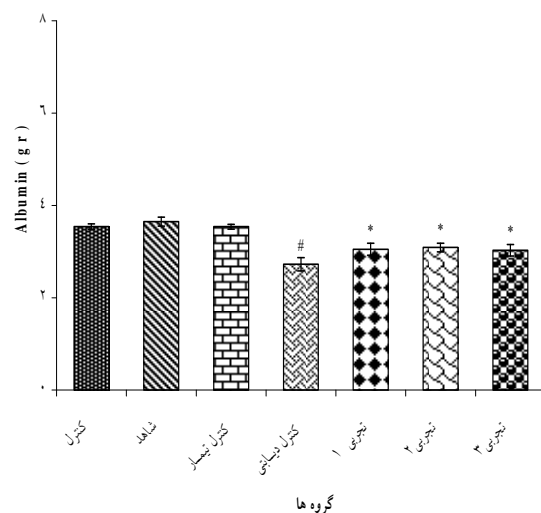
افزایش میزان آنزیم های ALT، AST، ALP و کاهش میزان پروتئین توتال و آلبومین حاکی از وجود آسیب کبدی در موش های دیابتی شده با استرپتوزتوسین است (۲۲). با توجه به آنکه یکی از عوارض دیابت آسیب کبدی است این یافته ها قابل انتظار می باشند (۲۳). افزایش سطوح سرمی این آنزیم ها احتمالاً به دلیل نشت آنها از سیتوزول کبد به داخل جریان خون طی بیماری دیابت است. از طرف دیگر کاهش میانگین مقادیر پروتئین توتال و آلبومین در گروه های دیابتی شده با استرپتوزتوسین دلالت بر این دارد که کبد قادر به سنتز این فاکتورها نیست (۲۳). افزایش میزان آنزیم های آلانین آمینوترانسفراز سرمی با اینکه در افراد سالم غیر معمول است اما در بیماران مبتلا به دیابت معمول است (۲۴). در مطالعه ای که بر روی ۳۷۰۱ بیمار مبتلا به دیابت انجام شد در ۲ تا ۲۴ درصد بیماران افزایش آنزیم های کبدی بالاتر از حداکثر نرمال



**نمودار شماره ۱: مقایسه غلظت سرمی پروتئین توتال به دنبال مصرف مقادیر مختلف عصاره آبی - الکلی دانه خرنوب در گروه ها.**

علامت \* نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه های تجربی نسبت به گروه کنترل دیابتی و علامت # نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل است ( $P < 0.05$ ).

معنی داری نشان داد ( $P < 0.05$ ) و کاهش غلظت این فاکتور در گروه تجربی ۱ نسبت به گروه کنترل دیابتی معنی دار نبود ( $P < 0.05$ ) (نمودار شماره ۱).



**نمودار شماره ۲: مقایسه غلظت سرمی آلبومین به دنبال مصرف مقادیر مختلف عصاره آبی - الکلی دانه خرنوب در گروه ها.**

علامت \* نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه ها با گروه کنترل دیابتی و علامت # نشان دهنده اختلاف معنی دار گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل است ( $P < 0.05$ ).

بود (۲۵). بنابراین دیابت نه تنها دارای اثرات مخرب و سمی بر سلول‌های بتای لوزالمعده می باشد بلکه سایر اندام‌ها مانند کبد را نیز درگیر می کند. این بیماری، اعمال متابولیکی بدن را مختل کرده و هیپرگلیسمی ایجاد شده به علت گلیکوزیلاسیون و پراکسیداسیون لیپیدی منجر به افزایش استرس اکسیداتیو می شود، به واسطه استرس اکسیداتیو با تقویت تولید رادیکال‌های آزاد، سیستم‌های آنتی اکسیدانی غیر فعال شده و آثار مخربی بر کبد می گذارد (۱۶، ۲۶). سد دفاعی بدن در برابر ترکیبات اکسید کننده و رادیکال‌های آزاد آنتی اکسیدان‌ها می باشد (۲۷). سطوح بالای رادیکال‌های آزاد موجب آسیب پروتئین‌های سلولی، لیپیدهای غشایی و اسیدهای نوکلئیک می گردد که نتیجه آن مرگ سلولی است. پیامد استرس اکسیداتیو در نهایت منجر به عوارض ناشی از دیابت می شود (۲۸).

مطالعات نشان داده اند که دانه خرنوب دارای ترکیباتی مانند توکوفرول، استرول‌های گیاهی و آنتی اکسیدانی‌های فراوان است و می تواند با اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد تولید شده مقابله نموده و استرس اکسیداتیو درون سلولی را به حداقل برساند (۳۰، ۲۹، ۱۰، ۷). Gohar و همکاران با مطالعه فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی دانه خرنوب متوجه شدند دانه این گیاه منبعی غنی از آنتی اکسیدان‌های طبیعی است (۳۰). احتمالاً عصاره دانه خرنوب با فعال نمودن سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی و افزایش فعالیت آن و تبدیل آنیون سوپراکسید به پراکسید هیدروژن رادیکال‌های آزاد تشکیل شده به واسطه ایجاد دیابت را خنثی نموده و موجب بهبود سطوح سرمی فاکتورهای عملکردی کبد می شود (۱۶). همچنین مطالعات Alan و همکاران نشان داد ترکیبات موجود در دانه خرنوب با کاهش قند خون می تواند به درمان دیابت کمک کند (۳۱). شواهد بدست آمده نشان می دهد هیپرگلیسمی در تولید و افزایش رادیکال‌های آزاد در بیماران دیابتی نقش دارد. رابطه مستقیم میان کنترل ضعیف گلوکز و

عوارض دیگر دیابت مانند آسیب کبدی نشان داده شده است، در مقابل کنترل دقیق گلوکز خون منجر به تأخیر در بروز عوارض دیابت می گردد (۲۷). بنابراین کنترل قند خون موجب بهبود عملکرد کبد می شود (۲۸). تحقیقات نشان می دهد دانه خرنوب به دلیل داشتن ترکیباتی مانند فیبرها، گالاکتومنان و پلی فنول‌ها موجب کاهش قند خون در موش‌های دیابتی می شود (۱۱، ۱۰). تحقیقات انجام شده بر روی موش‌های صحرایی نشان داده است که مصرف پودر دانه خرنوب موجب کاهش قند خون می شود و علت این کاهش وجود ترکیبات پلی ساکارییدی در اندوسپرم دانه مخصوصاً گالاکتومنان‌ها معرفی شده است. پلی فنل‌های موجود در دانه نیز باعث افزایش چسبندگی محتویات لوله گوارش می شدند و می توانند به این طریق قند خون را کاهش دهند (۱۶). بنابراین کاهش قند خون موجب کاهش تولید رادیکال‌های آزاد می شود به دنبال آن آسیب کبدی ایجاد شده ناشی از هیپرگلیسمی بهبود می یابد (۲۸).

از سویی دیگر مطالعات نشان می دهند که عصاره آبی الکلی دانه خرنوب علاوه بر کاهش قند خون میزان کلسترول، LDL و تری گلیسرید را نیز به طور معنی داری کاهش می دهد. این عمل به واسطه حضور اسیدهای چرب غیر اشباع مانند لینولئیک اسید و اولئیک صورت می گیرد. به نظر می رسد که اسیدهای چرب اشباع با مهار کلیرانس واسطه گیرنده LDL-C و مهار بیان گیرنده‌های LDL-C کلسترول تام را افزایش می دهند. در نتیجه احتمال دارد که اولئیک اسید فعالیت گیرنده‌های LDL-C را به حالت طبیعی درآورده و باز جذب کلسترول را کم کند (۱۷، ۳۲). لذا به نظر می رسد دانه خرنوب با افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی، کاهش گلوکز، کلسترول و تری گلیسرید سرم و به دنبال آن کاهش سطح لیپیدهای کبدی و جلوگیری از تشکیل کبد چرب موجب بهبود سطح فاکتورهای عملکردی کبدی در پلازما می گردد.

**نتیجه گیری:**

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق عصاره آبی - الکلی دانه خرنوب می تواند باعث کاهش آسیب کبدی ناشی از دیابت شود. لذا با انجام پژوهش های بیوشیمایی و فارماکولوژیکی بیشتری می توان افزودن دانه خرنوب را به رژیم غذایی بیماران دیابتی توصیه نمود.

**تشکر و قدر دانی**

این پژوهش بخشی از پایان نامه دوره کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی علوم جانوری می باشد که با کد ۵۲۳۰۵۱۹۸۸۱۰۰۱ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون به تصویب رسیده و انجام شده است. بدینوسیله نویسندگان مراتب سپاس خود را از پرسنل محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون اعلام می دارند.

**منابع:**

1. Leeds JS, Forman EM, Morley S, Scott AR, Tesfaye S, Sanders DS. Abnormal liver function tests in patients with Type 1 diabetes mellitus: prevalence, clinical correlations and underlying pathologies. *Diabet Med*. 2009; 26(12): 1235-41.
2. Cameron NE, Gibson TM, Nangle MR, Cotter MA. Inhibitors of advanced glycation end product formation and neurovascular dysfunction in experimental diabetes. *Ann N Y Acad Sci*. 2005 Jun; 1043: 784-92.
3. Kalia K, Sharma S, Mistry K. Non-enzymatic glycosylation of immunoglobulins in diabetic nephropathy. *Clin Chim Acta*. 2004 Sep; 347(1-2): 169-76.
4. Liu HR, Tang XY, Dai DZ, Dai Y. Ethanol extracts of *Rehmannia complex* (Di Huang) containing no corni fructus improve early diabetic nephropathy by combining suppression on the ET ROS axis with modulate hypoglycemic effect in rats. *J Ethnopharmacol*. 2008; 118(3): 466-72.
5. Bulter R, Morris AD, Belch JJE, Hill A, Struthers AD. Allopurinol normalizes endothelial dysfunction in type 2 diabetes with mild hypertension. *Hypertension*. 2000; 35(3): 746-51.
6. Banerjee SK, Dinda AK, Manchanda SC, Maulik SK. Chronic garlic administration protects rat heart against oxidative stress induced by ischemic reperfusion injury. *BMC Pharmacol*. 2002; 2(16): 1471-2210.
7. Ide N, Lau BH. Garlic compounds minimize intracellular oxidative stress and inhibit nuclear factor-kappaB activation. *J Nutr*. 2001 Mar; 131(3s): 1020S-6S.
8. Asgary S, Kazemi S, Moshtaghian SJ, Rafieian M, Bahrami M, Adelnia A. The protective effect of *Cucurbita pepo* L. on liver damage in alloxan- induced diabetic rats. *Shahrekord Univ Med Sci. J* 2010; 11(Suppl.1): 59-65.
9. Kazemi S, Asgary S, Moshtaghian J, Rafieian M, Adelnia A, Shamsi F. Liver -protective effects of hydroalcoholic extract of *Allium hirtifolium* Boiss in rats with alloxan-induced diabetes mellitus. *Arya Atherosclerosis*. 2010; 6(1): 5-11.
10. Mohamed D, Helal A, Hamed I, Hosein H, Al-Okbi S. *Ceratonía siliqua* pods as a cheap source of functional food components. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau*. 2008; 104: 25-9.
11. Custodio L, Fernandes E, Escapa AL, Lopez-Avila S, Fajardo A, Aligue R, et al. Antiproliferative and apoptotic activities of extracts from carob tree (*Ceratonía siliqua* L.) in MDA-MB-231 human breast cancer cells. *Planta Med*. 2008; 74(9): 48.
12. Mozaffarian V. A dictionary of Iranian Plant Names. Tehran: Farhang Moaser Pub; 1996.
13. Mirhaydar H. Plant information: Plant usage in disease treatment. Tehran: Farhang Islami Press; 1994.

14. Vivatvakin B, Buachum V. Effect of carob bean on gastric emptying time in Thai infants. *Asia Pacific J Clin Nutr*. 2003; 12(2): 193-97.
15. Custodio L, Marques L, Mayor A, Alonso P, Albericio F, Romano A. Evaluation of the antimalarial activity of extracts of carob tree (*Ceratonia siliqua* L.). *Planta Med*. 2008; 74(9): 49.
16. Mokhtari M, Sharifi S, Shahamir-Tabaabaee. The effect of hydro – alcoholic seeds extract of *Ceratonia siliqua* L. on the kidney functional factors in diabetic male rats. *J Lorestan Univ Med Sci*. 2011; 13(2): 74-82.
17. Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes mellitus: complications and therapeutics. *Med Sci Monit*. 2006 Jul; 12(7): RA130-47.
18. Williams DR, James WP, Evans IE. Dietary fibre supplementation of a 'normal' breakfast administered to diabetics. *Diabetologia*. 1980; 18(5): 379-83.
19. Kazemi S, Asgari S, Moshtaghian SJ, Rafieian-kopaei M, Mahzooni P. Preventive effect of pumpkin (*Cucurbita Pepo* L.) on diabetic index and histopathology of pancreas in alloxan-induced diabetes in rats. *J Isfahan Med School*. 2011; 28(117): 872-81.
20. Wang T, Shanker K, Ronis MJJ, Mehendale HM. Potentiation of thioacetamide liver injury in diabetic rats is due to induced CYP2E1. *J Pharmacol Exp Ther*. 2000 Aug; 294(2): 473-9.
21. Akbarzadeh A, Norouzzian D, Mehrabi MR, Jamshidi Sh, Farhangi A, Allah Verdi A, et al. Lame Rad, Induction of diabetes by streptozotocin in rats. *Indian J Clin Biochem*. 2007; 22(2): 60-4.
22. Asgary S, Moshtaghian SJ, Setorki M, Kazemi S, Rafieian-kopaei M, Adelnia A. Hypoglycaemic and hypolipidemic effects of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) on alloxan-induced diabetic rats. *Afr J Pharm Pharmacol*. 2011; 5(23): 2620-6.
23. Baradaran A, Madihi Y, Merrikhi A, Rafieian-Kopaei M, Nasri H. Serum lipoprotein (a) in diabetic patients with various renal functions not yet on dialysis. *Pak J Med Sci*. 2013; 29(1): 354-7.
24. Trombetta M, Spiazzi G, Zoppini G, Muggeo M. Review article: type 2 diabetes and chronic liver disease in the Verona diabetes study. *Aliment Pharmacol Ther*. 2005; 22(2): 24-7.
25. Belcher G, Schernthaner G. Changes in liver tests during 1-year treatment of patients with type 2 diabetes with pioglitazone, metformin or gliclazide. *Diabet Med*. 2005 Aug; 22(8): 973-9.
26. Hamdena K, Carreaub S, Ali Boujbihaa M, Lajmic S, Aloulouc D, Kchaoud D, et al. Hyperglycaemia, stress oxidant, liver dysfunction and histological changes in diabetic male rat pancreas and liver: protective effect of 17  $\beta$ estradiol. *Steroids*. 2008 May; 73(5): 495-501.
27. Madamanchi NR, Vendrov A, Runge MS. Oxidative stress and vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005 Jan; 25(1): 29-38.
28. Ahmad MS, Ahmed N. Antiglycation properties of aged garlic extract: possible role in prevention of diabetic complications. *J Nutr*. 2006; 136(3): 796-9.
29. Palm F, Buerk DG, Carlsson PO, Hansell P, Liss P. Reduced nitric oxide concentration in the renal cortex of streptozotocin-induced diabetic rats: effects on renal oxygenation and microcirculation. *Diabetes*. 2005; 54(11): 3282-7.
30. Gohar A, Gedara SR, Baraka HN. New acylated flavonol glycoside from *Ceratonia siliqua* L. seed. *J Med Plants Res*. 2009; 3(5): 424-8.
31. Alan c. Sai T, Peng B. Effects of locust bean gum on glucose tolerance, sugar digestion, and gastric motility in rats. *J Nutr*. 1981 Dec; 111(12): 2152-6.
32. Rafieian-Kopaei M, Baradaran A, Rafieian M. Plant's antioxidants: From laboratory to clinic. *J Nephropathology*. 2013; 2(2): 152-3.

## **The effect of carob extract on liver function test in diabetic male rat**

Mokhtary M (PhD)\*, Sharifi E (MSc), Shahamir-Tabatabaee M (MSc)  
Biology Dept., Kazeroun Branch, Islamic Azad University, Kazeroun, Shiraz, I.R. Iran.  
Received: 2/Dec/2012      Revised: 30/Jan/2013      Accepted: 15/Apr/2013

**Background and aims:** Diabetes is one of the most common metabolic worldwide disorders that are associated with many pathological changes. This study seeks to investigate the effects of carob (*Ceratonia siliqua*. L) Seeds on the liver functions following the injection of streptozotocin.

**Methods:** In this experimental study, 56 male Wistar rats weighing 210-220gr were randomly selected and divided into seven equal groups: control group with no treatment, the case group which received only distilled water, the control group which treated with hydro alcoholic extract of carob seeds (600 mg/kg), the control diabetic group which received only streptozotocin and finally three experimental groups 1, 2, and 3 that received 150, 300, and 600 mg/kg of oral hydroalcoholic extract of carob seeds for 16 days, respectively. At the end of the experiments, blood samples were obtained from all the above-mentioned groups and levels of the enzymes ALT, AST, ALP, total protein and albumin were measured in the samples. Data were analyzed using one –way ANOVA and LSD test.

**Results:** Concentration of AST, ALT, ALP in experimental groups 1, 2 and 3 significantly decrease in respect to diabetic control group ( $P<0.05$ ). The serum level of total protein in experimental group 3 showed a significant increase ( $P<0.05$ ). In addition, in experimental groups 1, 2 and 3 concentration of albumin significantly increased compare with diabetic control group ( $P<0.05$ ).

**Conclusion:** Based on the results, consumption of hydro-alcoholic seeds extracts is recommended to be used in diabetic patient's diet for reducing liver disorder.

**Keywords:** Carob, Diabet, Liver, Rat.

**Cite this article as:** Mokhtary M, Sharifi A, Shahamir-Tabatabaee M. The effect of extract of carob on liver function test in diabetic male rat. J Shahrekord Univ Med Sci. 2013 Aug, Sep; 15(3): 40-47.

---

**Corresponding author:**

Biology Dept., Branch Kazeroun, Azad Islami University, Kazeroun, I.R. Iran. Tel: 00989171811963,  
E-mail: mokhtar\_mokhtary@yahoo.com